

стадия разделения иммунных комплексов от непрореагировавших компонентов (отмывка), которые находятся в разных фазах (образовавшиеся иммунные комплексы находятся на твердой фазе, а непрореагировавшие комплексы – в растворе). Гетерогенные методы, в которых формирование иммунных комплексов на первой стадии протекает на твердой фазе, называют твердофазными методами.

Методы относятся к гомогенно-гетерогенным, если 1 стадия – образование специфических комплексов – происходит в растворе, а затем для разделения компонентов используют твердую фазу с иммобилизованным реагентом.

Метод гетерогенного ИФА состоит из 3 основных этапов:

1) иммобилизация антигена или антитела на твердой фазе, полученный комплекс называется иммуносорбентом;

2) удаление несвязавшегося реагента и блокирование сайтов связывания на твердой подложке с помощью блокирующих белков, таких, например, как альбумин, казеин; инкубация анализируемого препарата с иммуносорбентом для того, чтобы произошло их связывание;

3) детекция благодаря ферментативной активности самого исследуемого вещества или благодаря связанной с анализируемым препаратом ферментативной метке (прямой вариант). В некоторых случаях производится дополнительная инкубация комплекса «иммуносорбент–исследуемое вещество» с вторичными антителами, конъюгированными с ферментативной меткой (непрямой вариант).

Количественное определение исследуемого вещества осуществляется путем добавления подходящего для используемого детектора субстрата и сравнения сигнала исследуемого вещества со стандартным образцом.

Метод гетерогенного ИФА подразделяют на неконкурентный ИФА и конкурентный ИФА. Схемы анализа могут быть модифицированы в процессе разработки лекарственного препарата в соответствии с необходимыми требованиями. Изменения должны быть указаны в фармакопейной статье или